**In vitro исследование интернализации флуоресцентно-меченных мицелл олеил-гиалуронана на линиях клеток РМЖ**

***Антонова*** ***М.М.1, Малиновская Ю.А.1, Бейгуленко Д.В.1, Калачева Е.А.2, Филин А.А.2, Ермоленко Ю.В.1, Ковшова Т.С.1, Гельперина С.Э.1***

*Аспирант, 1 год обучения*

*1ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», Москва, Россия*

*2ФГБУ «НМИЦ психиатрии и наркологии им В. П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия*

*E-mail: antonova.maria.m@mail.ru*

Благодаря своей амфифильной природе и способности к самосборке в водных растворах модифицированная олеиновой кислотой гиалуроновая кислота (ГК-С18) может выступать в качестве перспективной платформы для доставки гидрофобных лекарственных веществ (ЛВ), что было показано в *in vitro* и *in vivo* экспериментах для ряда противоопухолевых агентов. Тем не менее, стабильность мицеллоподобных структур ГК-С18 и механизмы их интернализации в клетки представляют интерес.

**Целью** настоящей работы является исследование интернализации мицелл ГК-С18, нагруженных паклитакселом (PTX), на линиях клеток рака молочной железы (РМЖ мыши 4T1 и человека MDA-MB-231) методом конфокальной флуоресцентной микроскопии.

**Материалы и методы.** Включение PTX в гидрофобное ядро мицелл ГК-С18 проводили путем его растворения в этаноле и последующей ультразвуковой гомогенизацией с 1% водным раствором ГК-С18, конъюгированным с флуоресцентным красителем Cyanine5 (ГК-С18-Су5). Растворитель удаляли путем упаривания на роторном испарителе. Наносуспензии фильтровали (GF, 1 мкМ) и лиофилизировали. Гидродинамический диаметр и ζ-потенциал поверхности мицелл измеряли методом динамического лазерного светорассеяния; содержание PTX оценивали методом ВЭЖХ. Для исследования интернализации лиофилизаты мицелл ГК-С18-Су5/PTX ресуспендировали в воде, вносили в чашки с клетками и инкубировали в течение 20 и 60 минут, после чего клетки отмывали фосфатно-солевым буфером. Скорость и эффективность интернализации мицеллярных структур оценивали методом флуоресцентной микроскопии. Для оценки колокализации с органеллами (лизосомы, митохондрии) рассчитывали коэффициенты Пирсона и Мандерса.

**Результаты.**  Методом УЗ-гомогенизации получены мицеллярные структуры ГК-С18-Су5/PTX со средним размером ~430 нм, ζ-потенциалом поверхности -49 мВ и содержанием PTX 1,3 мкг/мл. Установлено, что мицеллы эффективно проникали в клетки обоих типов, равномерно распределяясь по цитоплазме и не сорбируясь на мембране. Интенсивность флуоресценции возрастала с увеличением времени инкубации с 20 до 60 минут, при этом на линии MDA-MB-231 средняя интенсивность флуоресценции составила 773,4 уже через 20 минут, тогда как для клеток 4Т1 это значение составило 429,5 и возросло до 880,2 через 60 минут инкубирования. На линии MDA-MB-231 для всех временных точек коэффициенты Мандерса и Пирсона были менее 0,5, в то время как для клеток 4Т1 их значение превышало 0,75, что свидетельствует о различных механизмах интернализации мицеллярных структур в клетки.

**Заключение.** Методом конфокальной флуоресцентной микроскопии показано, что мицеллы ГК-С18-Су5/PTX успешно проникают в клетки РМЖ 4Т1 и MDA-MB-231, однако механизмы и эффективность интернализации различны и требуют дальнейшего изучения.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания (проект FSSM-2025-0002).*